

「環境変動に対する植物の頑健性の解明と応用に向けた
基盤技術の創出」

平成27年度採択研究代表者

H29 年度 実績報告書

三宅 親弘

神戸大学大学院農学研究科
准教授

活性酸素生成抑制システムの非破壊評価系の確立とフィールドへの応用
～危機早期診断システムの構築～

§ 1. 研究実施体制

(1)「三宅」グループ

- ① 研究代表者:三宅 親弘 (神戸大学大学院農学研究科、准教授)
- ② 研究項目
・ROSマーカー維持システムの非破壊評価系確立とそのフィールド検証

(2)「鈴木」グループ

- ① 主たる共同研究者:鈴木 雄二 (岩手大学農学部、准教授)
- ② 研究項目
・イネの水ストレスに対する早期診断マーカーとしての ROS マーカーの活用の検証とマニュアル化

(3)「野口」グループ

- ① 主たる共同研究者:野口 航 (東京薬科大学生命科学部、教授)
- ② 研究項目
・環境ストレス下のモデル植物の早期診断マーカーとしてのROSマーカーの活用の検証とマニュアル化

(4)「遠藤」グループ

- ① 主たる共同研究者:遠藤 剛 (京都大学大学院生命科学研究科、准教授)
- ② 研究項目

・C4植物での水ストレスとROSマーカー測定による早期障害回避

(5)「伊福」グループ

① 主たる共同研究者:伊福 健太郎 (京都大学大学院生命科学研究科、助教)

② 研究項目

・ROSマーカー[Y(ND)]変動に伴う遺伝子発現解析とROSマーカー活用法の探索

(6)「早乙女」グループ

① 主たる共同研究者:早乙女 孝行 (分光計器(株)製造部、参事補)

② 研究項目

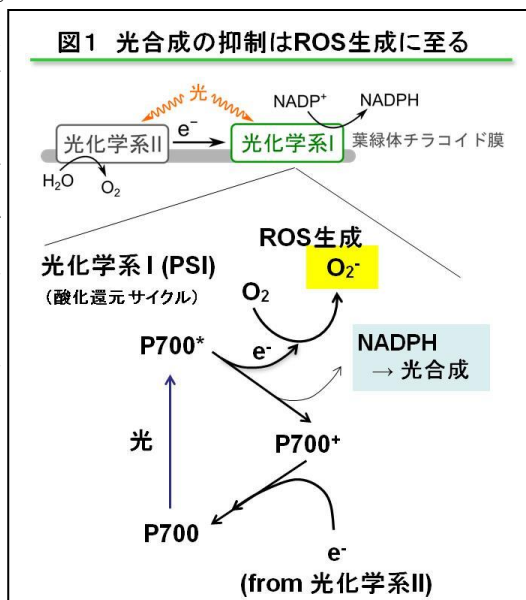
・フィールド環境で使用可能なROSマーカー非破壊評価装置の開発

§ 2. 研究実施の概要

植物は、成長のために光合成をおこなう必要があります。光合成では、二酸化炭素(CO₂)を固定し、植物自身が利用できるエネルギー貯蔵物質・糖を作るためのエネルギーを太陽光から得ています。つまり、太陽光は植物にとって不可欠なものであります。しかしながら、時として、太陽光は植物の成長を脅かす非常に危険なものになりえます。

私たちが生活する地球環境は、植物の光合成にとって必ずしも最適なものではありません。昨今、見聞きする気温の乱高下、降水量の変動など、植物の光合成を制限する要因は事欠きません。たとえば、低温は植物の細胞の働きを低下させ、光合成活動を抑制します。また、高温状況での日照りは、植物にとって水不足をもたらします。これに対して、植物は自身の水分損失を抑えるために、生葉にある CO₂ の取込み口(気孔)を閉じてしまいます。その結果、植物は光合成が抑制されます。このように、環境要因による光合成能低下は、植物・作物自身もつ潜在成長能力を「約5分の1」へ落とし、生育抑制をもたらしてしまいます。

光合成が抑制される状況で、CO₂ 固定に太陽光のエネルギーが使われなくなります。太陽エネルギーは、植物の葉で光合成が営まれる葉緑体・チラコイド膜に吸収され、CO₂ 固定のためのエネルギー化合物 NADPH 生成に使われます。光合成できない状況では、光エネルギーが NADPH 生成に利用されず過剰となってしまいます。この時、余った光エネルギーは、チラコイド膜において大気中に 20%も存在している酸素 O₂ へ電子が渡される反応に使われ、細胞にとって非常に有毒な活性酸素(ROS)を生成します(図 1)。この ROS は蓄積すると、光合成の機能に損傷を与え、植物生育抑制の原因となってしまいます。



研究代表者は、これまでの研究の中で、ROS 生成を抑制するシステムを植物自身が本来もっていることを明らかにしてきました。ROS は、光合成電子伝達系での電子の流れが滞ることで生成します(図 1)。チラコイド膜にある光化学系 II と I に吸収された光エネルギーは光化学系 II で水(H₂O)を光酸化することで光化学系 I への電子の流れを生み出し、光化学系 I で NADPH を生成します。光化学系 I (PSI)では、反応中心クロロフィル分子(P700)が光エネルギーを吸収し、エネルギーをもった P700 (P700*)が生成します。この P700*のもつエネルギーが NADPH 生成に使われ、P700*が酸化されたのちに P700+が生成します。この時、P700+が光化学系 II からの電子を受け取り、元の P700 へ戻ります。この一連の P700 の分子種変換を PSI 酸化還元サイクルと呼びます。このサイクルから明らかなように、NADPH へエネルギーが渡らない状況、光合成が抑制された状況で、P700*から O₂ へエネルギーが渡り、ROS が生成してしまいます。研究代表者はこれまで、植物の光合成が抑制される環境で P700+を維持するシステム (P700 酸化システム: この生理的役割が ROS 生成抑制である) が働き、PSI 酸化還元サイクルで P700*が生成する効率が

低下され、ROS 障害が抑制されることを、見出してきました。

本プロジェクトでは、変動する地球環境の中で、安定した植物・作物の生産性確保を可能にするために、以下のことに取り組みます。まず、(1)植物の ROS 生成抑制システムの頑健性をモニタリングできる非破壊評価測定系を、理論と方法論の両面において、ROS 生成抑制をモニターできるマーカーを確立することにより実証します。さらに、ROS 耐性の測定系を確立することにより、作物の生育環境の評価を実証します。(2)マーカー検知装置およびパルス照射による ROS 耐性評価機器の開発を行い、栽培環境において ROS 生成のストレス状況を速やかに判断できる「危機早期診断システム」の確立を行い、利用普及を目指します。

ROS 生成抑制をモニターできるマーカーとして、PSI 酸化還元サイクルを構成する P700+の存在割合を示す Y(ND)を ROS マーカー候補としています。実際、Y(ND)の値が大きい植物では ROS 障害が抑制される、あるいはこの値が小さい植物では ROS 障害が促進されることが、実験室環境で明らかになっています。さらに、ROS 耐性評価は、光合成の場である葉緑体で本来生成すべきところで ROS 生成をさせることができるパルス照射に対する光化学系 I の光失活を指標とします。

平成29年度は、(A) ROS マーカーによる ROS 生成の危機評価(Y(ND)法)およびパルス照射による ROS 耐性評価(パルス照射法)が、実際に作物が生育する環境において生育障害が目に見えて認識される前に、それぞれ応答する評価法として使えるかどうか、つまり ROS 危機の早期診断が可能かどうかを見極めることをメインにした研究開発を行いました。三宅グループは、生育抑制が生じる実験区とコントロール区の間で実フィールドでのパルス評価により比較解析しました。鈴木グループは、乾燥ストレスでの生葉へのダメージが発症する前に Y(ND)法の検討を行いました。野口グループは、高 CO₂ 環境下での作物生育と Y(ND)法の相関付け解析を行いました。伊福グループは、低温障害に対する Y(ND)評価法の検討を行いました。遠藤グループは、C4 植物における乾燥ストレス認識への ROS マーカーの適用を検討し、種依存性はあるが閾値の設定が可能なことを示しました。それと同時に、(B) ROS マーカー非破壊評価装置の開発：早乙女グループは、ROS マーカー測定装置の基本仕様の開発を行い、三宅グループとの性能試験によりプロトタイプ2を開発しました。

さらに、本年度の大きな成果として、ROS 生成を抑制するシステム、つまり「P700 酸化システム」での P700 酸化に関わる分子メカニズムの解明に成功しました(以下の論文◆)。そこでは、P700 酸化を誘導する光呼吸、Flavodiiron タンパク質の関与、ATPase の活性制御、さらに、P700 酸化に対する多様な分子メカニズムの存在を見出しました。これらは、多くの光合成生物に「P700 酸化システム」が適用できる「頑健性」を解明したことを意味し、CREST プロジェクトの課題である「頑健性解明」への貢献を果たせたものと判断しています。

◆根拠となる論文

1. Hitomi Hanawa, Daisuke Takagi, Ginga Shimakawa, Kana Nohira, Takehiro Sejima, Kei-ichiro Shaku, Amane Makino, Chikahiro Miyake (2017) Land plants drive photorespiration as higher electron-sink: Comparative study of post-illumination transient O₂-uptake rates from liverworts to angiosperms through

- ferns and gymnosperms. *Physiologia Plantarum* 161, 138-149.
2. Daisuke Takagi, Katsumi Amako, Masaki Hashiguchi, Hidehiro Fukaki, Kimitsune Ishizaki, Goh Tatsuaki, Yoichiro Fukao, Ryosuke Sano, Tetsuya Kurata, Taku Demura, Shinichiro Sawa and Chikahiro Miyake (2017) Chloroplastic ATP synthase builds up proton motive force for preventing reactive oxygen species production in photosystem I. *Plant Journal* 91, 306-324.
 3. 嶋川銀河、三宅親弘 (2017) 植物が安心して光合成できるワケ～PSI を光障害から護る P700 酸化システム～. *光合成研究* 78:4-15.